

Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.
10. Jg. 1972, S. 311—321

Plasmalipoproteine bei Patienten mit Hyperthyreose: Isolierung und Charakterisierung eines abnormen High-Density-Lipoproteins

Von H. WIELAND und D. SEIDEL

Med. Univ. Klinik (Ludolf-Krehl-Klinik) Heidelberg (Direktor Prof. Dr. G. Schettler)

(Eingegangen am 29. Dezember 1971)

Normalerweise finden sich in der HDL-Fraktion¹⁾ nur Lipoproteine mit α -Mobilität, während die der LDL- und VLDL-Fraktion als β - bzw. prä- β -Lipoproteine wandern. In der vorliegenden Arbeit wird der Nachweis erbracht, daß in der HDL-Fraktion von Patienten mit Hyperthyreose nicht nur α -Lipoproteine, sondern auch solche mit β -Mobilität in hoher Konzentration vorhanden sind. Diese abnorme Lipoproteinfraktion wird als β -HDL bezeichnet und kann durch eine Kombination von Ultrazentrifugation und Polyanionenpräzipitation isoliert werden. Im Vergleich zu den normalen β -Lipoproteinen unterscheidet sich das β -HDL in seiner Protein-Lipid-Zusammensetzung, die durch einen hohen Gehalt an Protein und niedrigen Gehalt an Cholesterin charakterisiert ist. Darüber hinaus sind die β -HDL-Partikel deutlich kleiner als die normalen β -Lipoproteine. Die VLDL-, LDL- und α -HDL-Fraktion zeigen eine normale Protein-Lipid-Zusammensetzung und entwickeln eine normale elektrophoretische Mobilität. Durch immunologische Methoden wird eine Identität zwischen normalen β -Lipoproteinen und dem β -HDL bewiesen und gleichzeitig eine Verwandtschaft zwischen dem β -HDL und dem Lp(a) Lipoprotein ausgeschlossen. Die genaue Analyse des Proteinanteils des β -HDL zeigt klar die Beteiligung eines zweiten Proteins neben dem Apo B am Aufbau des HDL-Moleküls. Das zweite, als H_1 bezeichnete Protein unterscheidet sich aufgrund einer eingehenden immunologischen Charakteristik, seiner Aminosäurezusammensetzung sowie in seiner N-terminalen Aminosäure deutlich von allen bekannten Apolipoproteinen und bis heute identifizierten Plasmaproteinen. Das H_1 scheint im Kern des β -HDL Moleküls lokalisiert zu sein. Die Ergebnisse von Lipidbindungsversuchen in vitro lassen darauf schließen, daß die abnorme Protein-Lipid-Zusammensetzung des β -HDL eher durch die spezifische Kombination des Apo B mit dem H_1 -Protein bestimmt wird, als durch das Lipidangebot. Da sich das β -HDL im Plasma gesunder Kontrollpersonen nie nachweisen läßt, ist es denkbar, daß die Bestimmung des β -HDL zu einem neuen wertvollen klinisch-chemischen Test in der Differentialdiagnose der Hyperthyreose werden kann. Unter einer erfolgreichen Therapie sinkt die Konzentration des β -HDL im Plasma von Patienten mit Hyperthyreose; nach optimaler Einstellung der Patienten ist es nicht mehr nachzuweisen.

Plasma lipoproteins in patients with hyperthyroidism. Isolation and characterization of an abnormal high density lipoprotein

The HDL fraction of the serum lipoproteins usually consists exclusively of α -lipoproteins, whereas the LDL and VLDL fractions migrate as β - and pre- β -lipoproteins, respectively. In the present work, it was found that the HDL fraction from patients with hyperthyroidism also contains a high concentration of lipoproteins with β -mobility. This abnormal lipoprotein fraction, which is designated β -HDL, can be isolated by ultracentrifugation and polyanion precipitation. Compared with the normal β -lipoproteins, the β -HDL contains a higher concentration of protein and a lower concentration of cholesterol. The β -HDL particles are also smaller than those of normal β -lipoproteins. The VLDL, LDL and α -HDL fractions from the same patients showed a normal protein — lipid composition and normal electrophoretic mobility. β -Lipoproteins and β -HDL were found to be immunologically similar, but there was no immunological relationship between β -HDL and the Lp(a) factor. However, careful analysis of the protein moiety of β -HDL indicated the presence of a second protein (designated H_1) in addition to apolipoprotein B. The protein H_1 , which is probably in the core of the particle, was characterized immunologically, by amino acid analysis and by its N-terminal amino acid. It differs from all known apolipoproteins and all the plasma proteins so far identified. Studies on the combination with lipids in vitro suggest that the abnormal protein — lipid composition of β -HDL is determined by the specific combination of apo B and H_1 in the described plasmalipoprotein. The determination of β -HDL may be useful for the diagnosis of hyperthyroidism. Plasma β -HDL is no longer demonstrable, following the successful treatment of hyperthyroidism.

Einleitung

Neben Albumin und den γ -Globulinen stellen die Lipoproteine die drittstärkste Fraktion der extrazellulären Makromoleküle im Plasma des Menschen dar. Ihre Struktur und Funktion hat in der letzten Dekade ein wachsendes Interesse gefunden und die Dynamik ihres Stoffwechsels beginnt sich zu klären.

Der regulierende Einfluß der Schilddrüsenhormone, insbesondere des Thyroxins, auf den Cholesterinstoffwechsel ist seit über 50 Jahren bekannt (1) und in einer Vielzahl von Studien untersucht worden (1—8). Man weiß heute, daß Schilddrüsenhormone die Syntheserate des Cholesterins in der Leber stimulieren (7), aber

den Aufbau und die Ausscheidung des Cholesterins durch die Galle noch stärker positiv beeinflussen (8). Dies hat zur Folge, daß es bei einer Schilddrüsenunterfunktion zu einem Anstieg, bei der Hyperthyreose zu einem Abfall der Plasmacholesterinkonzentration kommt. Diese Prozesse laufen wahrscheinlich unabhängig von dem gleichzeitig bestehenden Hypo- bzw. Hypermetabolismus bei der Hypo- bzw. Hyperthyreose ab, da die Plasmacholesterinspiegel keine eindeutige Beziehung zum Grundumsatz zeigen (8). Die Aktivierung des Stoffwechsels des Fettgewebes und der Triglyceride durch die Schilddrüsenhormone geht nicht nur aus dem Fettschwund bei der Hyperthyreose hervor, sondern zeigt sich vor allem in den niedrigen respiratorischen Quotienten, der Neigung zur Ketoacidose und auch in der gesteigerten Utilisation der

¹⁾ HDL = High Density Lipoproteins; LDL = Low Density Lipoproteins; VLDL = Very Low Density Lipoproteins.

Fettsäuren bei der Hyperthyreose (8–11). Analog dem Cholesterinstoffwechsel, wenn auch nicht so ausgeprägt, läßt sich auch im Stoffwechsel der Triglyceride zumindest bei hyperthyreoten Tieren eine erhöhte Synthese (12, 13), aber noch stärker ein beschleunigter Abbau nachweisen, wahrscheinlich bedingt durch das gesteigerte Kalorienbedürfnis der Gewebe bei erschöpftem Glucoseangebot (8, 14). Die Wirkung der Schilddrüsenhormone auf den Phospholipidstoffwechsel ist bisher kaum untersucht worden und ohne daß hier klare Beziehungen erkannt sind, kann sicher gesagt werden, daß die Hyperthyreose zu keiner signifikanten Senkung der Phospholipidkonzentration im Plasma führt.

Dieser Befund, wie die Tatsache, daß Patienten mit Hyperthyreose trotz niedriger Plasmacholesterinwerte ein normales Lipidelektropherogramm zeigen (vgl. Abb. 1), veranlaßte uns, den Transportmechanismus der Plasmalipide bei der Hyperthyreose genauer zu analysieren.





Die Gründe hierfür liegen in der Kenntnis, daß es bei einem ungestörten Transport der Plasmalipide undenkbar ist, daß der Cholesterinspiegel im Plasma bei gleichbleibenden Phospholipidkonzentrationen absinkt, ohne von einer Verminderung der cholesterinreichen β -Lipoproteine begleitet zu sein. Dies ist unter physiologischen Bedingungen und normalen Transportverhältnissen dadurch bedingt, daß die wasserunlöslichen Plasmalipide nicht frei im Plasma zirkulieren, sondern transportiert werden, indem sie nach einer ganz bestimmten Ordnung aller Plasmalipide in festen Konzentrationsverhältnissen und wohl strukturiert Verbindungen mit besonderen Proteinen eingehen. Wir bezeichnen diese konjugierten Makromoleküle heute als lösliche oder Plasmalipoproteine im Gegensatz zu den Struktur- oder Membranlipoproteinen. Ihnen kommt, wie die Ergebnisse der Lipidforschung der letzten Jahre vielfältig gezeigt haben und wie durch die Resultate der vorliegenden Arbeit bestätigt wird, eine zentrale Bedeutung bei der Differenzierung und in der

Suche nach den pathophysiologischen Zusammenhängen der Dyslipoproteinämien zu.

Biochemische Charakteristik der normalen Lipoproteinfractionen (15)

Die physikochemischen und chemischen Eigenschaften der Plasmalipoproteine, wie ihre Dichte, Größe und elektrophoretische Mobilität sind festgelegt durch ihre konstante Protein-Lipid-Zusammensetzung (vgl. Tab. 1). Da bekanntlich die Lipide eine wesentlich niedrigere Dichte besitzen als die Proteine, zeichnen sich alle Plasmalipoproteine durch eine, verglichen mit den Plasmaproteinen, niedrigere Dichte aus. Das Plasmalipoproteinspektrum erstreckt sich über den Dichtebereich von 0,9 bis 1,21 g/ml. Die Plasmalipoproteine mit sehr niedriger Dichte bestehen vorwiegend aus Triglyceriden und sind die größten Lipoproteine, während mit höherer Dichte ihre Größe ab und ihr Proteingehalt zunimmt. Sie alle setzen sich jedoch aus den 4 Komponenten Protein, Cholesterin, Triglycerid und Phospholipid zusammen, allerdings zu unterschiedlichen, aber normalerweise sehr konstanten Konzentrationsverhältnissen. Untersucht man das Plasmalipoproteinspektrum in der analytischen Ultrazentrifuge, so zeigen sich vier immer wiederkehrende Konzentrationsmaxima und -minima. Die Konzentrationsminima gelten als Grenzschichten zur Fraktionierung der Plasmalipoproteine nach Dichteklassen mit Hilfe der präparativen Ultrazentrifuge. Mit ihr lassen sich die Plasmalipoproteine in prinzipiell vier Klassen fraktionieren:

Tab. 1
Charakteristik der normalen Plasmalipoproteine

a) Physiko-chemische Eigenschaften					
Dichte- klasse	VLDL		LDL		HDL
	0,9 g/ml		1,006 g/ml	1,063 g/ml	1,21 g/ml
Elektro- phoretische Charakteri- sierung	Chylo- mikronen	prä- β - Lipoproteine	β -Lipo- proteine	α -Lipo- proteine	
Größe [nm]	100 - 1000	30 - 70	15 - 25	7,5 - 10	
Form					
Zusammensetzung	Protein [%]	1	8-10	20	50
	Phospho- lipide [%]	4	18	23	30
	Chole- sterin [%]	6	19	45	18
	Trigly- ceride [%]	85-90	50	10	2-5

b) Verteilung der Apolipoproteine

Dichte- klasse	b) Verteilung der Apolipoproteine			
	0,9 g/ml	1,006 g/ml	1,063 g/ml	1,21 g/ml
	VLDL	LDL	HDL	
S_f	10 ⁵	400	20	0
Elektrophorese				
	Chylomikronen	prä- β -Lipoproteine	β -Lipoproteine	α -Lipoproteine
Apolipoproteine	A			
	B			
	C			

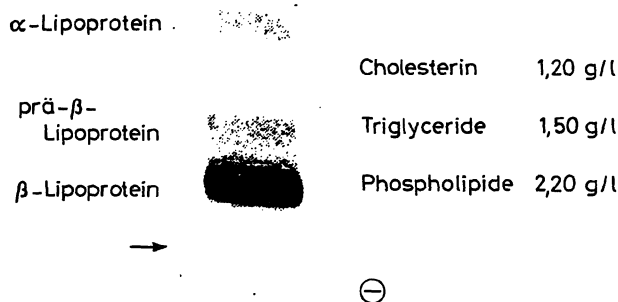
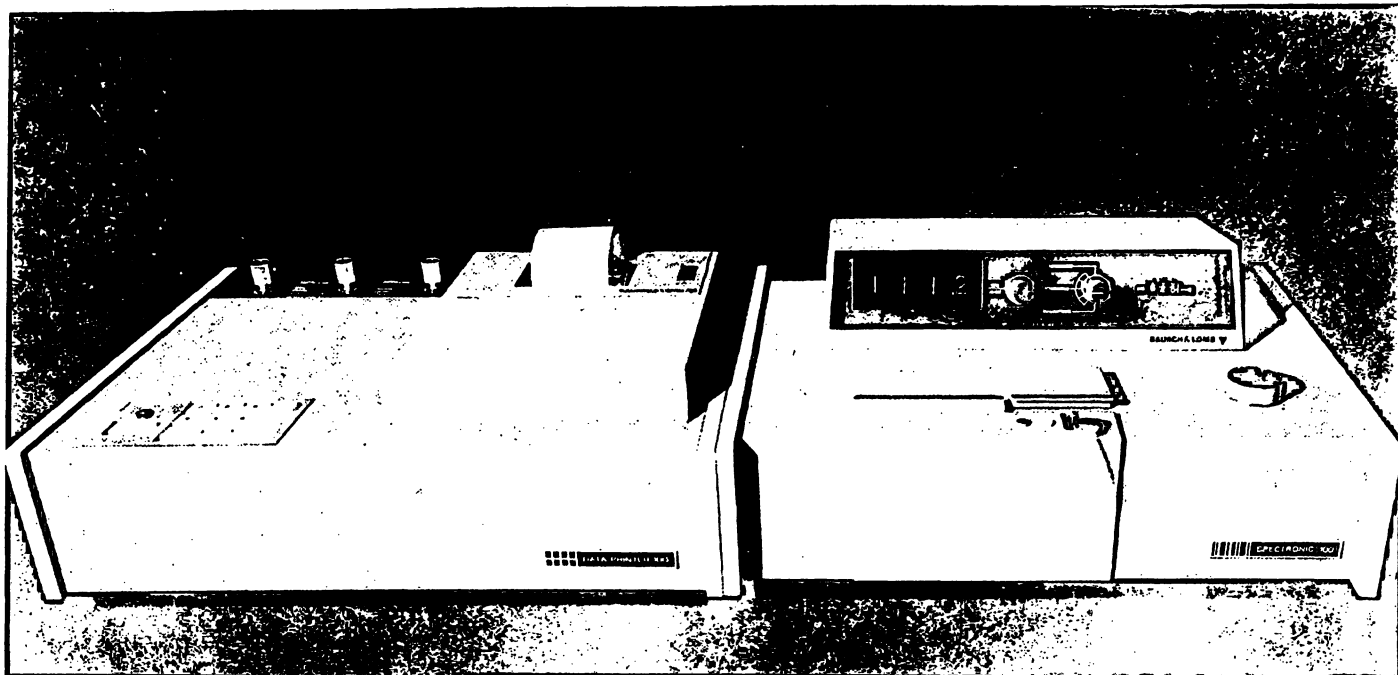


Abb. 1

Lipidelektropherogramm eines Patienten mit Hyperthyreose in 1proz. Agarose, mit Angabe seiner Plasma-Lipidwerte



Spectronic® System 400-2 von BAUSCH & LOMB

Ein programmgesteuerter Meßplatz für Endpunkt- und kinetische Bestimmungen

□ Das Spektralphotometer dieses Meßplatzes ist das bewährte SPECTRONIC 100 mit digitaler Meßwertanzeige im Wellenlängenbereich 325-925 nm.

□ Am Steuergerät DP 100 wird der Meßablauf programmiert und die am Photometer angezeigten Meßwerte in T, E oder C mit Proben-Identifizierung ausgedruckt.

■ Dieser Meßplatz bietet sich für Serienmessungen förmlich an. Die manuelle oder automatische Probenzuführung startet den Ablauf des gesamten Meßvorganges und der Datenprotokollierung.

■ Keine Ablesefehler mehr, keine zeitraubende Meßwertübertragung, geringste Verschleppungsfehler, höchstmögliche Meßfrequenz.

Verkauf und Service durch die technischen Büros der BAUSCH & LOMB-Organisation

BAUSCH & LOMB  GMBH
ANALYSENSYSTEME

8043 Unterföhring b. München · Postfach 1128 · Telefon (0811) 971673/74

Wird der Vielkanal-Analysator, den Sie heute anschaffen, auch morgen noch Ihre ständig steigenden Forderungen erfüllen?

Sicher nicht, denn diese Forderungen ergeben sich erst aus zukünftiger Arbeit.

Das Vielkanal-Analysator-System VAS 1105 von AEG-TELEFUNKEN wurde aus diesem Grund wie ein Computer aufgebaut, der über festverdrahtete Zusatzeinschübe beliebig programmiert werden kann.

Das AEG-NIM-kompatible System umfaßt Speichereinheiten verschiedener Größe, Sichtgeräte, dreidimensionale Darstellung, Analog-Digital-Wandler mit 200 MHz Taktfrequenz, Halbleiter- und Szintillations-Detektoren mit Versorgungselektronik und Spezialverstärkern, Mehrfachdetektor- und Gruppenfortschaltungs-Einheiten, Adressverteiler, digitale Anzeige, Ausgabe auf Drucker, Schreiber und Plotter, Uni-

versal-Programm-Automatik, quartzgesteuerte Echtzeit-Automatik, Interface für Lochstreifen, Magnetband, Tischrechenmaschinen und Digitalrechner, CAMAC-Interface, CAMAC-Eingaberegister für Übergabe der ADC- und Speicherdaten in das CAMAC-System, CAMAC-Ausgaberegister für Programm-, Steuerbefehl- und Dateneingabe in das Vielkanal-Analysator-System VAS 1105.

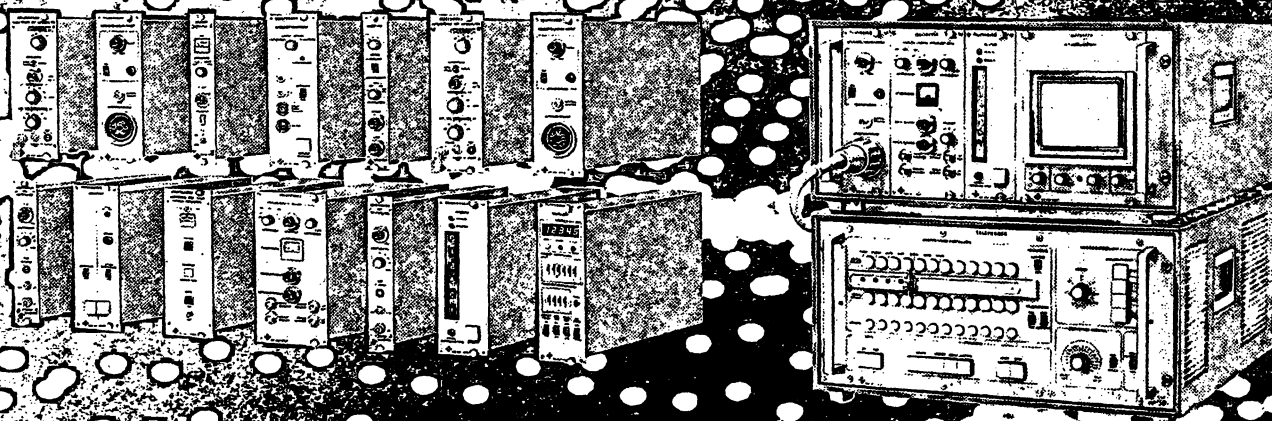
Nennen Sie uns Ihre Wünsche, damit Ihr Vielkanal-Analysator-System von heute durch neue Zusatzeinschübe mit Ihren Forderungen wächst.

AEG-TELEFUNKEN
Fachbereich Hochfrequenztechnik
79 ULM, Elisabethenstraße 3



Hochfrequenzgeräte
von AEG-TELEFUNKEN

123.034



1,12 g/ml eingestellt und erneut unter den angegebenen Bedingungen zentrifugiert. Der Überstand der letzten Ultrazentrifugation enthält nur das abnorme β -HDL, in einigen Fällen auch Lipoprotein-C, das aber durch Immunabsorption mit anti-Apo C Serum quantitativ eliminiert werden konnte.

Alle isolierten Plasmalipoproteinfraktionen wurden vor der weiteren Analyse ausgiebig (48 Stdn.) unter ständigem Wechsel bei 4°C gegen 0,9proz. NaCl-Lösung dialysiert.

Quantitative Bestimmung des abnormen β -HDL

Zur quantitativen Bestimmung des β -HDL wurden 5 ml Nüchternplasma oder -Serum der Patienten bei einer Dichte von $d = 1,063$ g/ml 48 Stdn. lang bei 4°C und 105 000 g zentrifugiert, am Unterstand nach einer 12-stdg. Dialyse gegen 0,9proz. NaCl-Lösung eine Heparinpräzipitation vorgenommen und am gelösten Präzipitat das Cholesterin bestimmt. Als Umrechnungsfaktor vom Cholesteringehalt des Heparinpräzipitats auf Gesamtplasmakonzentration β -HDL (in mg/l) wurde der Faktor 800 eingesetzt. Er errechnet sich aus dem prozentualen Gehalt an Cholesterin des β -HDL und dem Cholesteringehalt des Heparinpräzipitats der HDL-Fraktion.

Auftrennung der Proteinanteile des abnormen β -HDL

Das Apo β -HDL setzt sich aus zwei Proteinanteilen zusammen. Dem normalen Apo B und einem zweiten, als H_1 bezeichneten Protein. Die Trennung der beiden Proteine gelang nach totaler Delipidierung des β -HDL durch Äthanol-Äther. Hiernach bleibt der Apo B Anteil des β -HDL unlöslich, während das H_1 -Protein leicht wasserlöslich ist.

Lipoproteinelektrophorese

Die Lipoproteinelektrophorese des Gesamtplasmas wie der isolierten Plasmalipoproteinfraktionen wurde auf Papier nach LEES und HATCH (16) und in Agarose/Agar nach der von GRETEN und SEIDEL (17) angegebenen Methode unter Zusatz von Albumin und unter Verwendung eines Veronalpuffers (pH 8,6; Ionenstärke 0,05) durchgeführt. Als Lipidfarbstoff diente Öl-Rot-O.

Präzipitation mit Polyanionen

Die von BURSTEIN und SAMAILLE (18) beschriebene Heparin-Präzipitation zur Isolierung von β -Lipoproteinen wurde leicht abgewandelt. Auf 100 ml des Unterstandes ($d = 1,063$ g/ml) wurden nach Dialyse gegen 0,9proz. NaCl-Lösung 4 ml einer 5proz. Heparinlösung und 5 ml einer 1M Manganchloridlösung zugesetzt. Nach 30 Min. Stehen bei +25 bis +30° wurden die präzipitierten Lipoproteine durch Zentrifugation während 20 Min. bei 15 000 U./Min. getrennt und der Überstand zur Isolierung der α -HDL weiter verwandt (siehe oben). Das Präzipitat wurde in einem Gemisch aus 1 ml einer 10proz. Na-Citrat- und 2 ml einer 20proz. NaCl-Lösung gelöst und mit einem 1 mM Tris-Puffer pH 7,6 auf 100 ml verdünnt und anschließend unter Zugabe von 5 ml einer 1M Manganchloridlösung repräzipitiert. Dieser Prozeß wurde zweimal wiederholt und das letzte Präzipitat wie oben beschrieben gelöst, anschließend während 30 Stdn. gegen 9proz. NaCl- und 12 Stdn. gegen eine 5proz. Barium-Chloridlösung bei 4°C dialysiert. Der Heparin-Barium-Chloridkomplex konnte danach durch Zentrifugation mit 5000 U./Min. aus der gelösten β -HDL-Fraktion eliminiert werden, die im Anschluß daran 48 Stdn. lang bei 4°C gegen eine 0,9proz. NaCl-Lösung dialysiert wurde, um sie später im physiologischen Milieu zu analysieren.

Immunelektrophorese und Immundiffusion

Proben von Gesamtplasma, isolierte intakte Plasmalipoproteinfraktionen, wie delipidierte Plasmalipoproteinfraktion wurden mit der Doppelimmundiffusionstechnik in 1proz. Agar nach OUCHTERLONY (19) und der Immunelektrophoresetechnik in 1proz. Agarose (20) unter Verwendung eines Veronalpuffers (pH 8,6; Ionenstärke 0,005) analysiert. Alle Platten wurden 24 bis 36 Stdn. in einer feuchten Kammer zur vollen Entwicklung der Präzipitationslinien bei 37°C inkubiert und nach mehrmaligem Waschen (1 mM Tris-Puffer pH 7,6) und Trocknen mit Amido-Schwarz auf Protein und Öl-Rot-O auf Lipid angefärbt. Als

Antiseren wurden Seren gegen menschliches Albumin, α_2 -Makroglobulin, Haptoglobin, IgA, IgG, IgM, IgE, Transferrin, Caeruloplasm, β_2 -C-Makroglobulin, β_2 -Glykoprotein, Fibrinogen, C-reaktives Protein, α_2 -HS-Glykoprotein wie Seren gegen Human-Vollserum der Firma Behring-Werke Marburg/Lahn und der Firma Meath, Paines and Byrne LTD, Greenford, England verwandt. Die Antiseren zum Nachweis der α -Lipoproteine, β -Lipoproteine, des Lipoprotein C, des Lp(a)-Lipoproteins sowie die Antiseren gegen das abnorme β -HDL wurden nach einer früher angegebenen Methode (21–23) im eigenen Laboratorium durch Immunisierung von Kaninchen hergestellt. Die verwendeten Antiseren wurden vor dem Gebrauch auf ihre Spezifität und Titer getestet.

Immunabsorption

Zur Immunabsorption wurde zunächst das optimale Konzentrationsverhältnis des Antiserums zur antigenen Lösung mittels einer Mikrotitrationsmethode festgelegt. Das entsprechend angesetzte Antigen-Antikörper-Gemisch wurde während 3 Stdn. bei 37°C inkubiert und anschließend 12 Stdn. bei 4°C gehalten. Danach wurde das Immunpräzipitat durch Zentrifugation bei 10 000 U./Min. von der verbleibenden Lösung getrennt.

Protein- und Lipidbestimmung

Die isolierten Lipoproteinfraktionen wurden in ihrem Proteingehalt nach LOWRY und Mitarbeitern (24), in ihrem Cholesteringehalt nach SPERRY und WEBB (25), in ihrem Phospholipidgehalt nach GERLACH und DEUTICKE (26) und in ihrem Triglyceridgehalt nach VAN HANDEL und ZILVERSMIT (27) bestimmt. Um von Lipid-Phosphor auf Phospholipid umzurechnen, wurde ein Faktor von 25 eingesetzt. Besonders lipidreiche Fraktionen wurden vor der Proteinbestimmung mit Äther extrahiert.

Polyacrylamid-Elektrophorese

Die Polyacrylamid-Elektrophorese wurde im Canaco-Modell mit 6 Einheiten nach den Angaben von DAVIS (28) und unter Verwendung eines kontinuierlichen Tris-Glycin-Puffers pH 8,8 durchgeführt. Das Acrylamidtrenngel bestand aus einer oberen, 3,5proz. und einer unteren, 7,5proz. Schicht, die fugenlos aneinander angeschlossen. Die Lipoproteinfraktionen wurden entweder vor der elektrophoretischen Trennung mit Sudan Schwarz auf Lipid vorgefärbt oder nach elektrophoretischer Trennung mit Amido Schwarz auf Protein gefärbt.

Elektronenmikroskopie

Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen der isolierten β -HDL-Fractionen wurden nach Negativfärbung durch 1proz. Kalium-Phosphorwolframsäure mit einem Siemens Elmiskop Typ 101 unter Verwendung von kohlebeschichteten Collodium-Kupfernetzen vorgenommen. In einzelnen Fällen wurden die Präparationen vor der Färbung mit 3proz. Glutaraldehyd in destilliertem Wasser fixiert.

Aminosäureanalyse

Zur Aminosäureanalyse wurden die total delipidierten Lipoproteinfraktionen nach genauer Einwaage 18 Stdn. lang bei 110°C in 6N HCl-Lösung unter Verschluss hydrolysiert, anschließend im Vakuum bei 40–50°C eingedampft und in einem Na-Citrat-Puffer pH 2,2 gelöst. Die Aminosäureanalyse erfolgte in einem Beckman-Unichrom AAA. Die neutralen und sauren Aminosäuren wurden auf einer Kationenaustauschsäule von 50 cm Länge mit einem Natrium-Citrat-Puffer (pH 3,28 und pH 4,2), die basischen Aminosäuren auf einer Kationenaustauschsäule von 16 cm Länge in einem Citrat-Puffer (pH 5,28) eluiert. Tryptophan und Cystein wurden nicht bestimmt. Die Bestimmung der N-terminalen Aminosäure des Apo- β -HDL wurde nach der Dansylchloridmethode (29) durchgeführt.

Partielle und totale Delipidierung der Lipoproteinfraktionen

Die partielle Delipidation wurde mit alkalisiertem Diäthyläther vorgenommen. Hierzu wurden die Lipoproteinlösungen im

Volumenverhältnis 1:50 mit Diäthyläther im verschlossenen Rundkolben über 20 Std. bei 4°C kräftig geschüttelt und anschließend die in der wäbr. Phase befindlichen Lipoproteine mit einem Scheidetrichter getrennt. Die letzten Spuren von Äther wurden durch Einblasen von Stickstoff in die Lipoproteinlösung eliminiert.

Die totale Delipidierung der Lipoproteinfraktion erfolgte nach einer Modifikation der Methode von SCANU und Mitarbeitern (30). Jede Fraktion wurde hierzu lyophilisiert und anschließend dreimal ausgiebig insgesamt 24 Std. bei -20°C in einem Äthanol-Äther-Gemisch 3:2 (v/v) extrahiert. Nach der letzten Behandlung mit dem Lösungsmittel wurden die Proteinanteile bei 5000 U./Min. abzentrifugiert und unter Stickstoff getrocknet, um die letzten Spuren des Lösungsmittels zu entfernen.

Lipidbeladung von isolierten Lipoproteinfraktionen

Die Lipidanreicherung wurde in vitro an isolierten, intakten β -HDL-Fraktionen, partiell delipidierten normalen β -Lipoproteinen wie total delipidierten α -Lipoproteinen nach der Methode von SCANU (31) vorgenommen. Als Lipide wurden den Fraktionen mit Ultraschall behandelte Lipidextrakte von normalem LDL, intakte isolierte LDL oder Vollplasma von Patienten mit einer Hyperlipoproteinämie vom Typ II oder vom Typ IV angeboten. Die Inkubation erfolgte bei 37°C während 12 Std. Als Kriterium einer erfolgreichen Lipidbeladung galt bei den partiell delipidierten β -Lipoproteinen wie bei den total delipidierten α -Lipoproteinen die Anfärbbarkeit ihrer Immunpräzipitationslinien mit Öl-Rot-O nach der Inkubation, bei dem β -HDL die Flotation in der Ultrazentrifuge bei einer Lösungsdichte von $d = 1,063$ g/ml.

Ergebnisse

Qualitative Zusammensetzung der Dichtefraktionen der Plasmalipoproteine bei der Hyperthyreose

Normalerweise finden sich in der High-Density-Lipoproteinfraktion ($d = 1,063-1,21$ g/ml) nur Lipoproteine mit α -Mobilität bei elektrophoretischer Trennung (32-35), während die Lipoproteine der Dichteklasse $d < 1,063$ g/ml als β - bzw. prä- β -Lipoproteine wandern. Dies gilt streng für die Plasmalipoproteinfraktionen von gesunden Kontrollpersonen wie von Patienten mit Dyslipoproteinämien. Eine einzige Ausnahme von dieser Regel stellte bisher das von BERG 1969 zuerst beschriebene Lp(a)-Lipoprotein dar (36), das trotz seiner Zugehörigkeit zur HDL-Fraktion prä- β -Mobilität entwickelt und offensichtlich keine Beziehung zu einer bestimmten Krankheit aufweist.

Nach der Fraktionierung des Plasmas von Patienten mit gesicherter Hyperthyreose bei der Dichte $d = 1,063$ g/ml zeigt der Unterstand ($d > 1,063$) bei elektrophoretischer Trennung (vgl. Abb. 2) aber im Gegensatz zu Normalplasma nicht nur eine Bande im α -Bereich, sondern darüber hinaus eine solche im Bereich der β -Globuline. Wir bezeichnen diese abnorme und in dieser Arbeit erstmals beschriebene Lipoproteinbande der HDL-Fraktion als β -HDL. Die Konzentration des abnormen β -HDL kann die der normalen β -Lipoproteine erreichen oder gar übersteigen. Die Immunelektrophorese der HDL-Fraktion von Patienten mit Hyperthyreose zeigt entsprechend nicht nur die spezifische Reaktion gegen anti- α -Lipoprotein-Serum im α_1 -Globulin Bereich, sondern darüber hinaus eine Präzipitationslinie gegen anti- β -Lipoprotein-Serum in der Position der β -Globuline (vgl. Abb. 3). Beide

Präzipitationslinien lassen sich mit Öl-Rot-O anfärben, was klar ihren Lipoproteincharakter anzeigt.

Um eine Ähnlichkeit zwischen dem β -HDL und dem Lp(a)-Lipoprotein BERG's auszuschließen, wurden die Plasmalipoproteinfraktionen eines Patienten mit Hyperthyreose, der Lp(a) positiv war, untersucht. Das Heparinpräzipitat dessen HDL-Fraktion zeigt in der Lipidelektrophorese (vgl. Abb. 4) eine prä- β - und β -Lipoproteinbande, aber nur die prä- β -Fraktion reagiert immunologisch mit dem spezifischen anti-Lp(a) Serum, während beide Fraktionen mit dem anti- β -Lipoprotein-Serum reagieren. In keinem Fall reagierte ein isoliertes

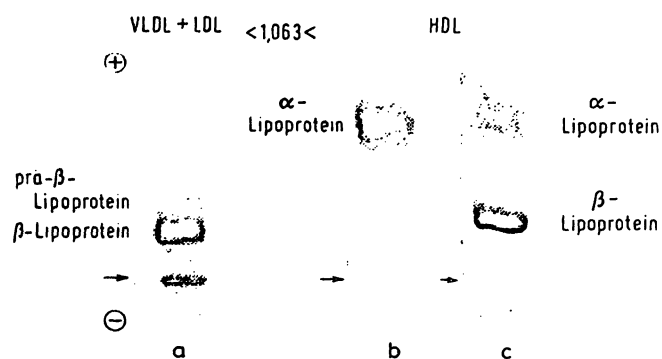


Abb. 2

Lipidelektropherogramme von isolierten Lipoproteinfraktionen in 1proz. Agarose. VLDL + LDL eines Patienten mit Hyperthyreose (a), HDL von einer gesunden Normalperson (b) und einem Patienten mit Hyperthyreose (c)

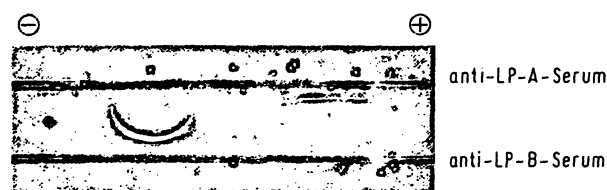


Abb. 3

Immunelektrophorese einer isolierten HDL-Fraktion eines Patienten mit Hyperthyreose in 1proz. Agarose gegen anti-LP-A und anti-LP-B Serum

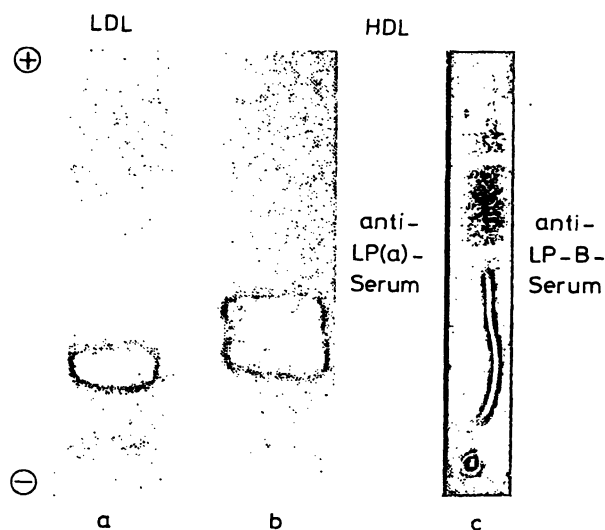


Abb. 4

Lipidelektrophorese einer LDL-Fraktion (a), sowie Lipid-(b) und Immunelektrophorese (c) (1proz. Agarose) des Heparinpräzipitats der HDL-Fraktion eines Patienten mit Hyperthyreose und nachgewiesenem Lp(a)-Lipoprotein. Als Antiserum wurden anti-Lp(a)-Serum und anti-LP-B-Serum verwendet

β -HDL immunologisch mit anti-Lp(a)-Serum. Dadurch ist eine Verwandtschaft oder Ähnlichkeit dieser beiden Lipoproteine ausgeschlossen.

Nachdem kürzlich gezeigt werden konnte, daß das Apo C eine wesentliche Proteinkomponente des Lp(a)-Lipoproteins darstellt (23), erklärt sich das gelegentliche Auftreten von Apo C im Heparinpräzipitat einer HDL-Fraktion von Patienten mit Hyperthyreose. Das Apo C in einer solchen Präparation läßt sich durch Immunabsorption mit der Immunglobulinfraktion eines spezifischen anti-Apo C-Serums und nachfolgender Ultrazentrifugation bei der Dichte $d = 1,12$ g/ml eliminieren.

Die biochemische, elektrophoretische und immunologische Analyse der isolierten LDL- und VLDL-Fraktion von Patienten mit Hyperthyreose zeigt keine Abweichungen von der Norm. Wie entsprechend isolierte Fraktionen des Normalplasmas zeigen die VLDL von Patienten mit Hyperthyreose immunologisch Apo A, Apo B wie Apo C und wandern in der Lipidelektrophorese als prä- β -Lipoproteine. Ebenso zeigen die LDL, die allerdings bis zur Hälfte ihrer Normkonzentration vermindert sein können, Apo B als Haupt-Apolipoprotein, nur in Spuren Apo A und wandern als β -Lipoproteine. Das Apo B der LDL zeigt eine normale Aminosäurezusammensetzung.

Isolierung des abnormen β -HDL (vgl. Tab. 2)

Die Isolierung des β -HDL aus der Plasmalipoproteinfraktion $d = 1,063$ g/ml gelingt unter Anwendung einer Heparinpräzipitation, einer Methode, die geeignet ist, auch die normalen β - und prä- β -Lipoproteine von den α -Lipoproteinen zu trennen. Da diese beiden Fraktionen jedoch ausschließlich in der Dichteklasse $d < 1,063$ g/ml vorkommen, finden sich in dem Heparinpräzipitat einer HDL-Fraktion ($d > 1,063$ g/ml) von Patienten mit Hyperthyreose nur das abnorme β -HDL, während die α -Lipoproteine gelöst im Filtrat bleiben (vgl. Abb. 5). Die nachfolgende Analyse des gelösten Heparinpräzipitats in der Ultrazentrifuge bei

der Dichte $d = 1,063$ g/ml und $1,21$ g/ml ergibt, daß es sich bei dem isolierten β -HDL um ein sogenanntes HDL₂ ($d = 1,063-1,12$ g/ml) handelt. Weder der Überstand ($d = 1,063$ g/ml) noch der Unterstand ($d = 1,12$ g/ml) zeigen immunologisch eine Reaktion gegen anti- β -Lipoprotein-Serum.

Charakterisierung des β -HDL

Das isolierte β -HDL wandert in der Papierelektrophorese mit normaler β -Mobilität während es in Agarose eine Mobilität zeigt, die im Vergleich zu den normalen β -Lipoproteinen leicht beschleunigt ist (vgl. Abb. 6). Diese Differenz ist wahrscheinlich eher auf Unterschiede in der Größe der Moleküle zurückzuführen als auf Unterschiede in ihrer Ladung. Im Elektronenmikroskop (vgl. Abb. 7) erscheinen isolierte β -HDL als runde Partikel mit einem Durchmesser von 15 nm und damit kleiner im Vergleich zu den normalen β -Lipoproteinen der LDL-Fraktion (37) mit einem Durchmesser bis 26 nm. Entsprechend dringt das isolierte β -HDL bei einer Polyacrylamidelektrophorese in ein 7,5proz. Gel ein, im Gegensatz zu den normalen β -Lipoproteinen, die nur in Gelkonzentrationen von 3,5% und geringer wandern (vgl. Abb. 8). Da die High-Density-Lipoproteine einen größeren Protein- und geringeren Lipidanteil aufweisen als die Low-Density-Lipoproteine, war zu vermuten, daß sich

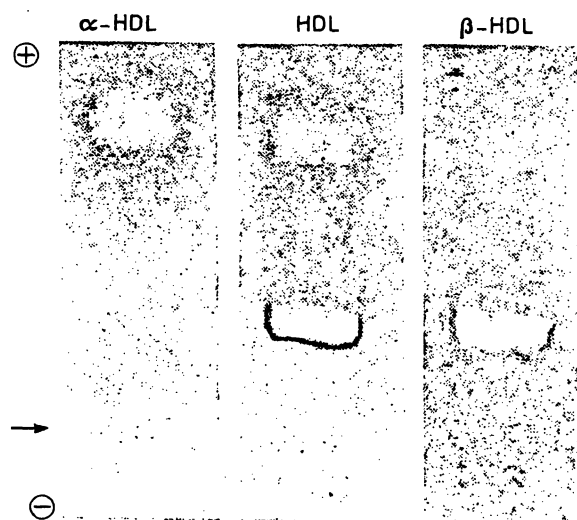


Abb. 5

Lipidelektrophorese isolierter Lipoproteinfraktionen eines Patienten mit Hyperthyreose in 1proz. Agarose

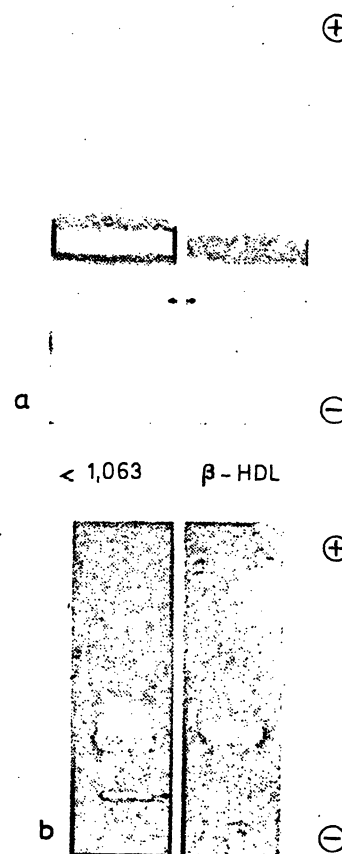


Abb. 6

Lipidelektrophorese auf Papier (a) und Agarose (b) einer isolierten β -HDL-Fraktion im Vergleich zu der Fraktion $d < 1,063$ g/ml (prä- β - und β -Lipoproteine)

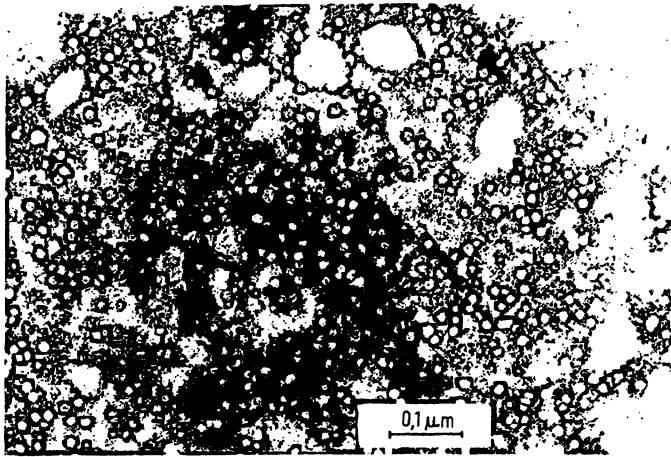


Abb. 7

Elektronenmikroskopische Aufnahme einer isolierten β -HDL Präparation nach „negative staining“ mit 1proz. Phosphorwolframsäure

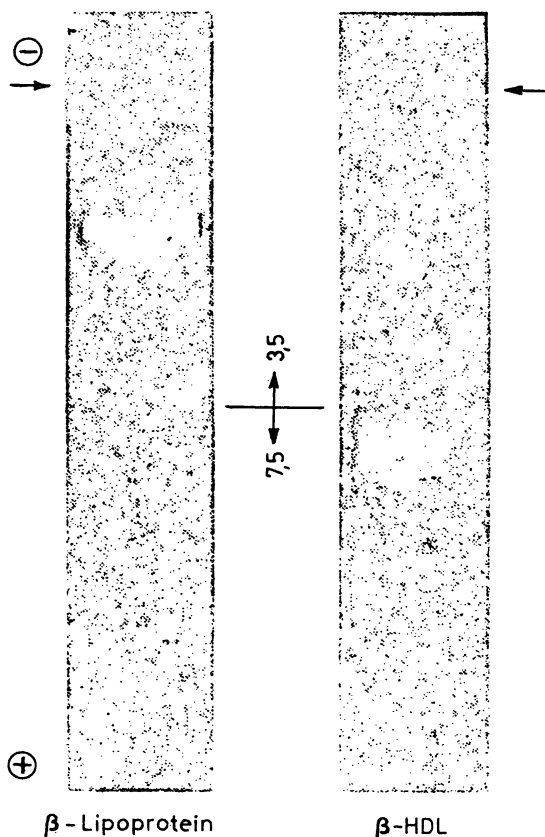


Abb. 8

Polyacrylamidelektrophorese normaler isolierter β -Lipoproteine und eines isolierten β -HDL in einem geschichteten 3,5proz./7,5proz. Trenngel

auch das β -HDL in seinem Protein/Lipid-Verhältnis und somit in seiner Protein-Lipid-Zusammensetzung von den normalen β -Lipoproteinen unterscheidet. Die separate Bestimmung des Protein-, Cholesterin-, Triglycerid- und Phospholipidanteils am isolierten β -HDL bestätigt diese Annahme. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 wiedergegeben und zeigen, daß sich das β -HDL durch einen hohen Gehalt an Protein, der zu einem Anwachsen des Protein/Lipid-Quotienten führt, wie durch einen niedrigen Gehalt an Cholesterin im Vergleich zu den normalen β -Lipoproteinen aus-

zeichnet. Der Gehalt an Triglyceriden und Phospholipiden ist bei beiden Lipoproteinfraktionen ähnlich, wenn nicht identisch.

Tab. 2

Protein-Lipid-Zusammensetzung isolierter Lipoproteinfraktionen

	Protein [%]	Cholesterin [%]	Phospholipide [%]	Triglyceride [%]	Protein/ Lipid- quotient
Normales β -Lipoprotein	22	45	23	10	0,28
β -HDL	43	25	22	10	0,75

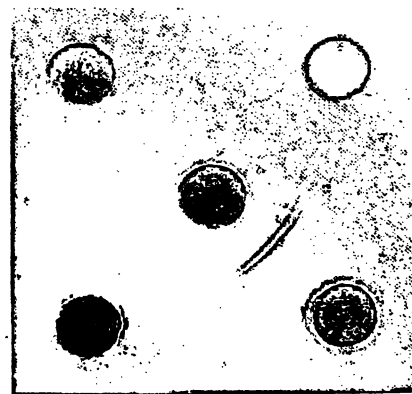
Charakterisierung des Proteinanteils des β -HDL

Während die HDL-Fraktion von Patienten mit Hyperthyreose immunologisch nicht nur mit anti- α -Lipoprotein-Serum sondern ebenso mit anti- β -Lipoprotein-Serum reagiert (vgl. Abb. 3), zeigt die isolierte β -HDL-Fraktion immunologisch nur noch eine Reaktion mit anti- β -Lipoprotein-Serum. Es reagiert weder in der Doppelimmundiffusion (vgl. Abb. 9) noch in der Immunelektrophorese mit Antiseren gegen Human- α -Lipoproteine, Lipoprotein C, Albumin oder irgend ein anderes Plasmaprotein. Diese Untersuchungen wurden bei unterschiedlichen Konzentrationen des Antigens und Antikörpers durchgeführt. Bei der Immundiffusion gegen anti- β -Lipoprotein-Serum erhält man eine volle Identität (vgl. Abb. 10) zwischen Kontrollserum, den β -Lipoproteinen der LDL-Fraktion und dem β -HDL von Patienten mit Hyperthyreose. Dieser Befund zeigt eindeutig, daß am Aufbau des β -HDL dem Proteinanteil der normalen β -Lipoproteine, dem Apo B, eine wesentliche Rolle zukommt.

Nach dem immunologischen Verhalten des isolierten β -HDL, dessen Homogenität und Reinheit nicht nur durch die immunologischen Methoden, sondern darüber hinaus durch den Nachweis nur einer einzigen Bande in der Polyacrylamidelektrophorese erwiesen ist, würde man von einem anti- β -HDL-Serum erwarten, daß es nur mit Apo B immunologisch reagiert.

anti-LP-A-Serum

anti-Albumin-Serum



anti-LP-C-Serum

anti-LP-B-Serum

Abb. 9

Immundiffusion eines isolierten β -HDL gegen anti-LP-A-, anti-Albumin-, anti-LP-B- und anti-LP-C-Serum

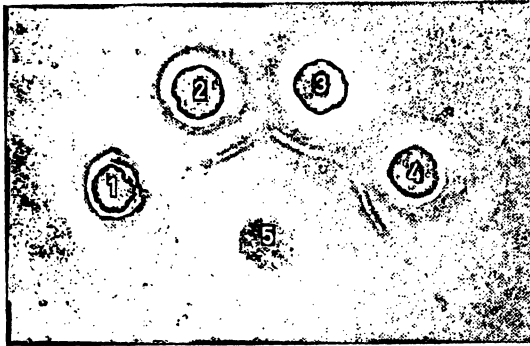


Abb. 10

Immunodiffusion eines Kontrollserums (1), einer LDL-Fraktion (2), einer β -HDL-Fraktion (3) sowie des Vollplasmas eines Patienten mit Hyperthyreose (4) gegen anti-LP-B-Serum (5) in 1proz. Agar

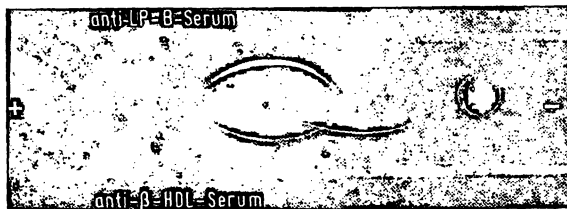


Abb. 11

Immunelektrophorese des Vollplasmas eines Patienten mit Hyperthyreose in 1proz. Agarose. Als Antiseren wurden anti-LP-B- und anti- β -HDL-Serum verwendet

Das vom Kaninchen nach i. p.-Injektion eines isolierten β -HDL gewonnene Antiserum gegen β -HDL reagiert aber in der Immunelektrophorese immer (verschiedene Präparationen bei verschiedenen Tieren) mit zwei Präzipitationslinien gegen Plasma von Patienten mit Hyperthyreose (vgl. Abb. 11), was darauf hinweist, daß der Proteinanteil des β -HDL wenigstens aus zwei Komponenten besteht. Eine Linie, die eine volle Identität zu den normalen β -Lipoproteinen aufweist, entspricht dem Apo B und läßt sich mit Lipidfarbstoff anfärben. Die zweite, nicht identische Linie läßt sich nicht mit Lipidfarbstoff anfärben und entwickelt eine geringere elektrophoretische Mobilität in Agarose als die β -Lipoproteine. Sie zeigt sich in dem Bereich zwischen Start und der β -Globulinposition.

Die zweite Proteinkomponente des β -HDL wird im folgenden als H_1 bezeichnet. Das H_1 -Protein reagiert immunologisch nicht mit spezifischen Antikörpern gegen α_2 -Makroglobulin, Haptoglobin, IgG, IgM, IgA, IgE, Caeruloplasmin, Transferrin, β_1 C-Makroglobulin, β_2 -Glykoprotein, Fibrinogen, C-reaktives Protein, α_2 -HS-Glykoprotein, β -Lipoprotein, α -Lipoprotein, Lipoprotein-C und Albumin, was eine Verwandtschaft mit diesen Plasmaproteinen ausschließt. Eine Ähnlichkeit des H_1 -Protein mit dem thyroxinbindenden Globulin (TBG) kann aufgrund seiner unterschiedlichen elektrophoretischen Mobilität ausgeschlossen werden. Das TBG wandert bekanntlich als α_2 -Globulin.

Immunologisch unterscheidet sich das H_1 -Protein ebenso eindeutig in seiner antigenen Determinante von allen bekannten Apolipoproteinen und zeigt darüber hinaus signifikante Unterschiede in seiner Aminosäurezusammensetzung zu diesen. Auffällig ist sein

relativ niedriger Gehalt an Histidin und relativ hoher Gehalt an Methionin im Vergleich zu bekannten Apolipoproteinen. Als N-terminale Aminosäure fanden wir für das H_1 -Protein Asparaginsäure.

Während verschiedene Antiseren gegen Human-Vollserum der Firma Behring-Werke Marburg/Lahn keine Kreuzreaktion mit dem H_1 -Protein zeigten, erhielten wir mit einer Charge von anti-Human-Serum der Firma Meath, Greenford, England eine Immunpräzipitationslinie gegen das isolierte H_1 -Protein, die voll identisch mit jener des H_1 -Proteins gegen anti- H_1 -Serum war. Dies, wie die Tatsache, daß das anti- H_1 -Serum auch mit Normalplasma immunologisch reagiert, weist darauf hin, daß es sich bei dem H_1 -Protein um ein offenbar bisher nicht identifiziertes normales Plasma-protein handelt, das bei der Hyperthyreose mit dem Apo B und Lipiden einen makromolekularen Komplex eingeht. Die strukturellen Beziehungen bzw. die Lokalisation der beiden Proteinanteile in diesem Protein-Lipid-Komplex werden durch Abbildung 12 deutlich. Da ein monospezifisches anti- H_1 -Serum nicht mit intaktem β -HDL, aber sehr wohl mit dem delipidierten β -HDL reagiert und isoliertes β -HDL durch in vitro Inkubation nur ein anti- β -Lipoprotein-Serum, nicht aber ein anti- H_1 -Serum erschöpft, scheint die H_1 -Komponente im Kern, der Apo B-Anteil an der Oberfläche des β -HDL lokalisiert zu sein.

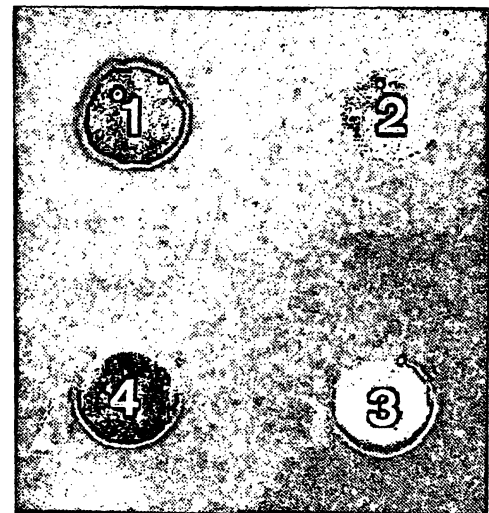


Abb. 12

Immunodiffusion in 1proz. Agar. 1 = anti-LP-B-Serum, 2 = H_1 -Protein, 3 = anti- H_1 -Serum, 4 = β -HDL

Lipidbindungsvermögen des β -HDL

Da der Cholesteringehalt des β -HDL gegenüber dem normalen β -Lipoprotein erniedrigt und sein Proteingehalt erhöht ist, sollte durch eine Serie von Lipidbindungsversuchen in vitro ein Einblick in die Lipidbindungskapazität des β -HDL gewonnen werden. Es wurde der Versuch unternommen, das isolierte β -HDL durch Inkubation mit Lipiden an Lipid anzureichern, um es damit aus seiner hohen, in eine für die β -Lipoproteine normale Dichtefraktion zu zwingen. Dies gelingt weder mit dem Lipidextrakt einer normalen

LDL-Fraktion noch mit intaktem normalen LDL oder Vollplasma von Normalpersonen wie von Patienten mit einer Hyperlipoproteinämie vom Typ II oder Typ IV. Unter identischen Bedingungen ist es uns hingegen gelungen, partiell delipidierte normale β -Lipoproteine oder total delipidierte Lipoproteine mit Lipid aufzuladen. Es läßt sich daraus schließen, daß nicht das Angebot an Lipid, insbesondere an Cholesterin, sondern wahrscheinlich die spezifische Kombination eines normalen Apo B mit dem H_1 -Protein verantwortlich ist für die abnorme Protein-Lipid-Zusammensetzung des β -HDL und für das daraus resultierende abnorme physikochemische Verhalten dieses Lipoproteins.

Das Auftreten von β -HDL im Plasma von Patienten mit Hyperthyreose

In allen 33 untersuchten Fällen, in 3 Fällen handelt es sich um ein toxisches Adenom, bei denen die Diagnose einer Hyperthyreose durch die klinische Symptomatik wie klinisch-chemisch (T_3 -Test, T_4/T_3 -Index, PBI-Bestimmung, Radiojodtest) klar gestellt werden konnte, ergab sich das Vorliegen des abnormen Plasmalipoproteins, des β -HDL. In keinem untersuchten Fall konnte das β -HDL noch nachgewiesen werden, nachdem es durch die Therapie eindeutig zur Normalisierung der Stoffwechselfunktion gekommen war.

In Abbildung 13 sind der Verlauf des T_4/T_3 -Index, die T_3 -Werte sowie die β -HDL-Konzentration bei einer 48-jährigen Patientin mit Hyperthyreose unter der Therapie dargestellt. Es zeigt sich eine gute Korrelation der β -HDL-Konzentration mit den verglichenen Parametern, die sich parallel dem klinischen Bild änderten. Inwieweit die Konzentration des β -HDL den Schweregrad der Hyperthyreose widerspiegelt, kann allerdings erst nach der Bewertung einer größeren Anzahl von genau kontrollierten Fällen beurteilt werden.

Wie zu erwarten war und bekannt ist, ergaben hingegen die Bestimmungen des Gesamtcholesterins im Plasma der untersuchten Patienten keinen verlässlichen dia-

gnostischen Hinweis für das Vorliegen oder den Ausschluß einer Hyperthyreose. Obgleich der Durchschnittswert unserer Patientengruppe mit 1,45 g/l Plasmacholesterin unterhalb der Norm lag, — der niedrigste Wert vor der Therapie betrug 0,87 g/l, — können solche Werte wegen der großen individuellen Streuung nicht als sicherer diagnostischer Parameter herangezogen werden. Sie erlauben allenfalls einen gewissen Hinweis auf den Erfolg der Therapie (5, 8). Es zeigte sich hier wie bei allen Störungen des Fettstoffwechsels deutlich die beschränkte Aussagekraft einer isolierten Analyse der einzelnen Plasmalipidfraktionen und unterstreicht gleichzeitig die Bedeutung und den Wert der genauen Charakterisierung der Plasmalipoproteinfraktionen.

Diskussion

Patienten mit Hyperthyreose zeigen häufig niedrigere Plasmacholesterinwerte bei normalem Lipidelektropherogramm und normalen Plasmaphospholipidwerten. Dieser scheinbare Widerspruch konnte durch den Nachweis, die Isolierung und biochemische Charakterisierung eines Lipoproteins von abnormen physikochemischen Eigenschaften im Plasma jener Patienten geklärt werden. Während die VLDL- und LDL-Fraktionen von Patienten mit klinisch gesicherter Hyperthyreose qualitativ keine Abweichungen von der Norm zeigen, finden sich in der HDL-Fraktion dieser Patienten nicht nur α -Lipoproteine sondern darüber hinaus β -Lipoproteine in hoher Konzentration, die die der β -Lipoproteine der LDL-Fraktion erreichen kann. Dieses abnorme β -Lipoprotein, das sich deutlich von dem $Lp(a)$ -Lipoprotein BERG's unterscheidet und als β -HDL bezeichnet wird, kann durch eine Kombination von Ultrazentrifugation und Heparinpräzipitation isoliert werden. In seiner Protein-Lipid-Zusammensetzung unterscheidet sich das β -HDL von den normalen β -Lipoproteinen durch einen hohen Gehalt an Protein und einem niedrigen Gehalt an Cholesterin, während bezüglich der Triglyceride und Phospholipide kein Unterschied besteht.

Da die Dichte der Plasmalipoproteine allein eine Funktion ihrer Protein-Lipid-Zusammensetzung, insbesondere ihres Protein/Lipid Quotienten ist, ihre elektrophoretische Mobilität in Agarose aber durch die Ladung des an der Oberfläche lokalisierten Proteins festgelegt ist, und ihre Lipidanfärbbarkeit im wesentlichen auf dem Gehalt an Neutralfetten beruht, erklärt sich mit der Charakterisierung des β -HDL die bekannte Diskrepanz zwischen Plasma-Lipidwerten und Lipidelektropherogramm bei Patienten mit Hyperthyreose. Die Erniedrigung der LDL-Fraktion (38–40) läuft parallel mit einem Absinken des Plasmacholesterins, das in dieser Fraktion am stärksten vertreten ist. Die damit normalerweise notwendig verbundene Abnahme der β -Lipoproteine und Plasmaphospholipide wird kompensiert durch das Auftreten eines abnormen β -Lipoproteins (β -HDL), nicht von niedriger, sondern von hoher Dichte und mit einem, für ein β -Lipoprotein

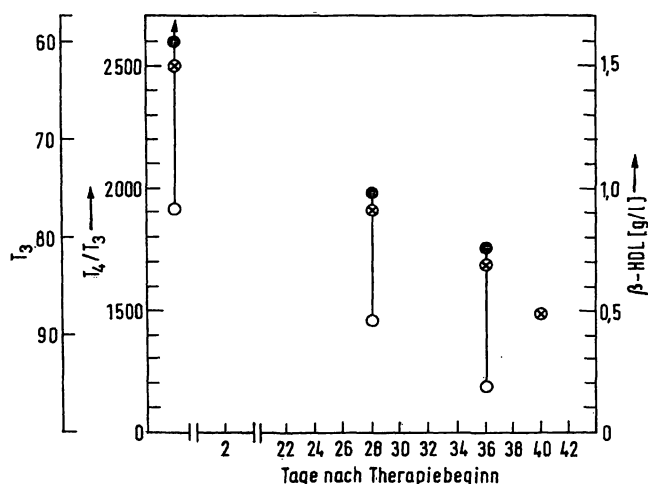


Abb. 13

Verlauf des T_3 -Wertes \circ , des T_4/T_3 -Index \bullet und der β -HDL-Konzentration \otimes unter der Therapie einer Hyperthyreose

niedrigen Gehalt an Cholesterin, aber normalem Phospholipid- und Triglyceridgehalt.

Die Charakterisierung des Proteinanteils des β -HDL hat klar gezeigt, daß das β -HDL aus dem Apo B, dem Proteinanteil der normalen β -Lipoproteine und zusätzlich aus einem bisher nicht identifizierten Plasmaprotein (als H_1 bezeichnet) besteht. Da sich die H_1 -Proteinkomponente weder in der Immundiffusion noch durch Immunabsorption am intakten β -HDL nachweisen läßt, wohl aber nach Delipidierung, ist zu vermuten, daß das H_1 -Protein im Kern des β -HDL lokalisiert ist oder zumindest der größte Teil dieses Proteins durch Lipid bedeckt ist. Hierfür spricht auch die Tatsache, daß das β -HDL eine normale β -Mobilität entwickelt, die nur durch den normalen Apo B-Anteil gegeben sein kann, nicht aber durch den H_1 -Protein-Anteil. Befänden sich beide Proteine an der Oberfläche des β -HDL, wäre eine elektrophoretische Mobilität zu erwarten, die zwischen der des H_1 -Proteins und der des Apo B liegt.

Die Vorstellung solcher strukturellen Verhältnisse im Plasmalipoprotein ist nicht mehr unwahrscheinlich, nachdem bei Verschlussikterus ein Lipoprotein nachgewiesen werden konnte (22, 41), das aus einem Albuminkern besteht, der von Phospholipiden und einer zweiten Proteinkomponente, dem Apo C, umschlossen ist.

Da sich das isolierte β -HDL unter geeigneten Bedingungen nicht mit Lipiden anreichern läßt, der Apo B-Anteil des β -HDL aber eine normale Aminosäurezusammensetzung zeigt, kann vermutet werden, daß die abnorme Protein-Lipid-Zusammensetzung des β -HDL nicht durch das Lipidangebot, sondern durch die spezifische Kombination des Apo B mit dem H_1 -Protein bestimmt wird. Diesem Befund kommt eine große theoretische Bedeutung zu, da wir bis heute keine schlüssigen Vorstellungen haben über die Faktoren, die die Apolipoproteine zu Lipidbindungen befähigen bzw. sie in ihrer Lipidbindungskapazität determinieren.

Es wird weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben, die Rolle der Schilddrüse im Stoffwechsel des β -HDL abzuklären. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen aber bereits deutlich, daß die Schilddrüse oder zumindest die Überfunktion dieses Organs nicht nur die Synthese und den Abbau der Plasmalipide beeinflusst, sondern darüber hinaus auch entscheidend ihren Transport im

Plasma. Sie bestätigen weiterhin, daß der bekannte Einfluß der Schilddrüsenhormone auf den Eiweißstoffwechsel (42—44) offensichtlich auch die Trägerproteine der Plasmalipoproteine betrifft. Bekannt ist seit 1958 (45) das Auftreten des Long Acting Thyreoid Stimulator (LATS), eines abnormen Immunglobulins (45—47) beim Morbus BASEDOW. Obgleich das H_1 -Protein sicher kein Immunglobulin darstellt und sich das β -HDL im Unterschied zu dem LATS (47, 48) auch beim toxischen Adenom findet, erscheint es uns denkbar, daß ähnliche Mechanismen zum Auftreten des LATS und des H_1 -Proteins in seiner lipidbindungsaktiven Form, die in der Kombination mit einem normalen Apo B besteht, führen könnten. Im gleichen Zusammenhang erscheint ein kürzlich von CHOPRA und Mitarbeitern (49) aus der Schilddrüse extrahiertes Lipoprotein, das eine beträchtliche Hemmung des LATS bewirkt, von Interesse. Obgleich sich dieses Lipoprotein nur in der Schilddrüse, nicht aber im Plasma oder anderen Geweben fand, zeigte es in seinem Proteinanteil nicht näher charakterisierte Plasmaproteine.

Inwieweit das Thyroxin für das Auftreten des β -HDL eine entscheidende Rolle spielt, werden noch laufende kontrollierte Stoffwechseluntersuchungen zeigen, die dazu bestimmt sind, qualitative und quantitative Verschiebungen der einzelnen Plasmalipoproteinfraktionen unter Gabe von Thyroxin zu verfolgen.

Die geringe Verwertbarkeit einer isolierten Plasmacholesterinbestimmung zur Beurteilung einer Hyperthyreose wird verständlich durch die Tatsache, daß das Plasmacholesterin nicht nur von den β -Lipoproteinen mit dem höchsten Cholesteringehalt im Plasma transportiert wird, sondern von allen Plasmalipoproteinfraktionen.

Die Tatsache, daß sich das abnorme und hier erstmalig beschriebene β -HDL weder im Plasma gesunder Kontrollpersonen noch bei Patienten mit bisher charakterisierten Fettstoffwechselstörungen nachweisen läßt, eröffnet die Möglichkeit eines neuen differentialdiagnostischen Parameters der Hyperthyreose, dessen sichere Aussagekraft an einem größeren Patientengut zu prüfen sein wird.

Die Arbeit wurde durch Mittel der Deutschen Forschungsgemeinschaft und des Margarine-Instituts für gesunde Ernährung unterstützt.

Literatur

1. EPSTEIN, A. A. und H. LANDE, Arch. Int. Med., Chicago 30, 563 (1917). — 2. SCHALLY, A. O., Erg. inn. Med. 50, 480 (1936). — 3. HURXTHAL, A. R. und J. HUNT, Arch. Int. Med., Chicago 9, 717 (1935). — 4. SCHETTLE, G., Z. exper. Med. 115, 251 (1950). — 5. SCHETTLE, G., Klin. Wschr. 28, 565 (1950). — 6. SCHETTLE, G. und H. LUKAS, Z. inn. Med., Leipzig 6, 14 (1951). — 7. ROSEMAN, R. H. und O. BYERS, J. clin. Endocr., Springfield 12, 1287 (1952). — 8. OBERDISSE, K. und E. KLEIN, Die Krankheiten der Schilddrüse. Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1967). — 9. HAGEN, J. H. und E. A. BALL, J. biol. Chemistry 235, 1545 (1960). — 10. HAGEN, J. H., J. biol. Chemistry 235, 2600 (1960). — 11. RICH, C., E. L. BIERMANN und I. L. SCHWARTZ, J. clin. Invest. 38, 275 (1959). — 12. MARCHI, P. und J. MAYER, Experiment 15, 359 (1959). — 13. SPIRITES, M. A., G. MEDES und S. WEINHOUSE, J. biol. Chemistry 204, 705 (1953). — 14. DEBONS, A. F. und I. L. SCHWARTZ, J. Lipid Res. 4, 200 (1963). — 15. SEIDEL, D., In: Fettstoffwechselstörungen. Hrsg. Schettler, G. Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1971). — 16. LEES, R. S. und F. T. HATCH, J. Laborat. Clin. Med., S. Louis 61, 518 (1963). — 17. GRETEN, H. und D. SEIDEL, Dtsch. med. Wschr. 95, 1716 (1970). — 18. BURSTEIN, M. und J. SAMAILLE, Clin. Chim. Acta, Amsterdam 5, 609 (1960). — 19. OUCHTERLONY, Ö., Acta Pathol. Microbiol. Scand. 32, 231 (1953). — 20. GRABAR, P. und C. A. WILLIAMS, Biochim. biophysica, Acta, Amsterdam 17, 67 (1955). — 21.

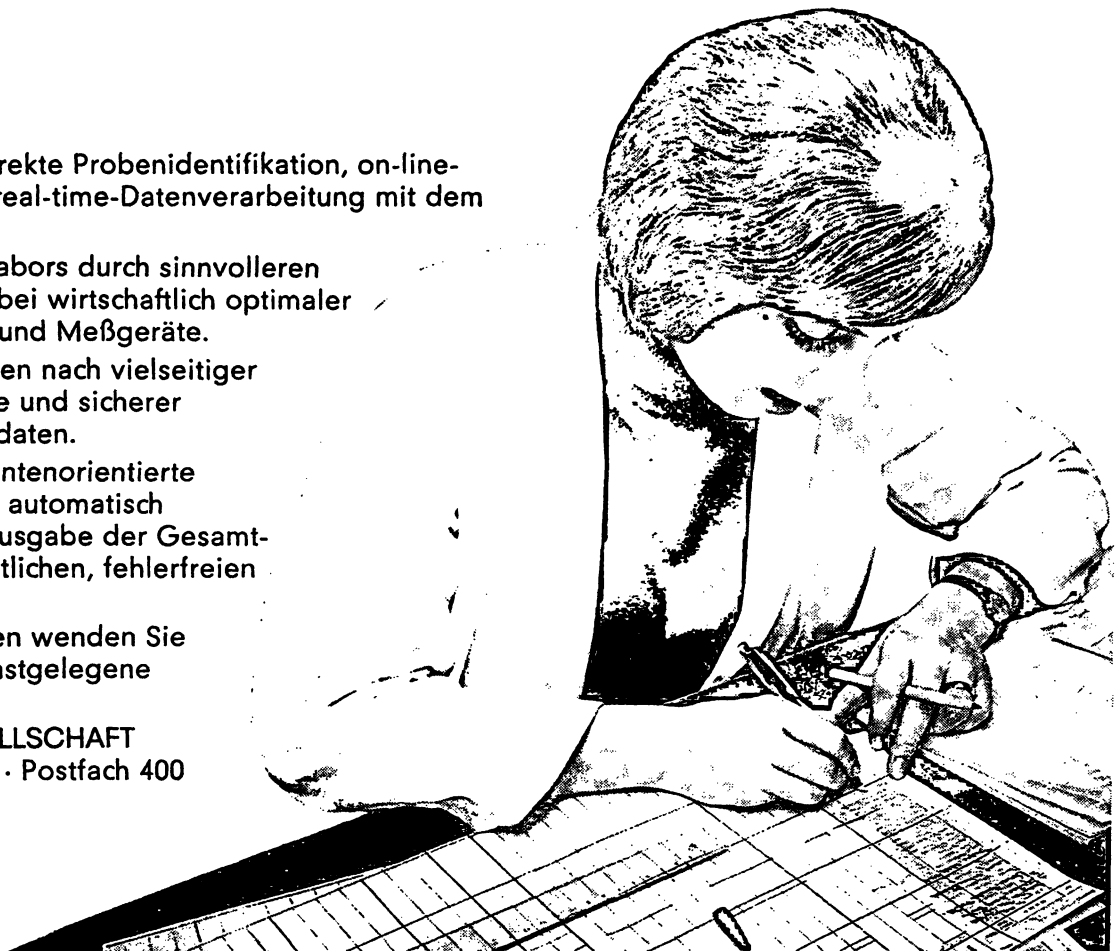
Sollen Ihre Laboranten Listen schreiben oder Proben untersuchen?

Unsere Lösung heißt: Direkte Probenidentifikation, on-line-Meßwerterfassung und real-time-Datenverarbeitung mit dem SILAB-System. Es bringt:

- Höhere Leistung des Labors durch sinnvolleren Einsatz der Fachkräfte bei wirtschaftlich optimaler Nutzung der Analysen und Meßgeräte.
- Termingerechte Analysen nach vielseitiger automatischer Kontrolle und sicherer Identifikation der Meßdaten.
- Arbeitsplatz- und patientenorientierte Zusammenstellung der automatisch verarbeiteten Daten. Ausgabe der Gesamtinformation in übersichtlichen, fehlerfreien Ergebnislisten.

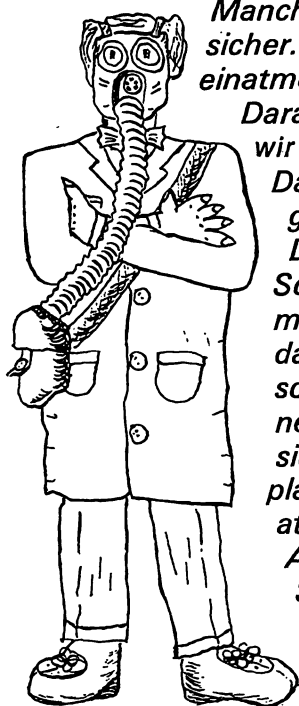
Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an unsere nächstgelegene Geschäftsstelle oder an:

SIEMENS AKTIENGESELLSCHAFT
 Med Dv · 8520 Erlangen · Postfach 400



Daten automatisch erfassen mit dem SILAB-System von Siemens

Er braucht kein Sprühkabinett für die Dünnschicht- Chromatographie.



Manche Leute gehen auf Nummer sicher. Sie wollen keine Dämpfe einatmen.

Daran haben wir gedacht, als wir unser Sprühkabinett bauten. Darum ist der Ventilator eingebaut.

*Darum haben wir den Schrägrahmen konstruiert. Er macht aus einem Sprühkasten das CAMAG-Sprühkabinett. Er sorgt dafür, dass die Reagenz-
nebel dorthin gelangen, wo sie sollen: auf die Dünnschichtplatte, und nicht in die Laboratmosphäre.*

Auch die Leute, die das Sprühkabinett benutzen, gehen auf Nummer sicher. Sie haben es ausserdem bequemer.

und Sie?

Kaufen Sie nun eine Gasmaske? Oder sollen wir Ihnen Unterlagen zum Sprühkabinett schicken?

CAMAG

Führend in

Dünnschicht-Chromatographie
Dünnschicht-Elektrophorese
Hochspannungs-Elektrophorese

4132 Muttensz/Schweiz
Homburgerstrasse 24
Tel. (061) 53 14 30

1000 Berlin 41
Bismarckstrasse 27-29
Tel. (0311) 791 50 91

DC 12

(106)

VERLAG CHEMIE

Diagramme, die die maßgebenden Strahlenschutzgrößen enthalten, gestatten die Berechnung der Schutzvorrichtungen mit minimalem Zeitaufwand!

Čedomir Dimitrijević

Praktische Berechnung der Abschirmung von radioaktiver und Röntgen-Strahlung

Ausgangspunkt aller Schutzmaßnahmen sind Kenntnisse über die physikalischen Eigenschaften der Materie und der Strahlung, die der Verfasser in den ersten Kapiteln behandelt. Es folgt die Beschreibung von Wechselwirkungsprozessen der Röntgen- und Gamma-Strahlen, eine Zusammenfassung der in technischen Strahlenschutz am häufigsten verwendeten radiologischen Größen und Einheiten unter Berücksichtigung der neuesten Bezeichnungen und Definitionen. Die Werkstoffe und Werkstoffdaten zur Abschirmung werden ebenso ausführlich behandelt, wie zeitsparende Berechnungsmethoden der Schutzvorrichtungen. Diese Berechnungen lassen sich mit geringstem Zeitaufwand anhand von speziellen Diagrammen, die die maßgebenden Strahlenschutzgrößen enthalten, durchführen. Weiterhin geht der Autor auf Probleme der Streustrahlung und auf Temperaturberechnungen im Abschirmmaterial ein. Anhand praktischer Beispiele wird der Leser schließlich über mögliche Strahlengefährdung und die entsprechenden Schutzmaßnahmen informiert.

Zur radioaktiven Strahlung zählen Alpha-, Beta- und Gamma-Strahlen. Die Energie von Röntgen- und Gamma-Strahlung gehört in der Medizin zu den wichtigsten therapeutischen Agentien und diagnostischen Hilfsmitteln. Auch in vielen naturwissenschaftlichen Disziplinen, besonders in der Physikalischen Chemie, Medizin und Technik spielt die Anwendung von Röntgen- und Gamma-Strahlen eine große Rolle. Durch die Anwendung der Kernenergie zur Stromerzeugung haben die Quellen energiereicher Gamma-Strahlung an Zahl und Größe erheblich zugenommen. Diese Strahlen sind aber nicht ungefährlich.

Mit dem vorliegenden Buch, das keinerlei Spezialkenntnis voraussetzt, wird einem breiten Kreis Interessierter die Möglichkeit gegeben, sich über Maßnahmen zum Schutz vor radioaktiven und Röntgen-Strahlen zu unterrichten. Das gilt vor allem für Mediziner, Chemiker, Physiker, Architekten, Laboranten, technische Assistenten und viele andere Mitarbeiter, die in kernphysikalischen, nuklearmedizinischen und radiochemischen Laboratorien, an Röntgen- und Gamma-Bestrahlungsanlagen sowie in Kernkraftwerken und in der Kernbrennstoffindustrie tätig sind.

1972. Ca. 140 Seiten mit 101 Abbildungen und 12 Tabellen
Format 21 x 29,7 cm. Leinen DM 64,—.

Wir übersenden Ihnen gern unseren Sonderprospekt.

VERLAG CHEMIE GMBH
WEINHEIM/BERGSTR.

- SEIDEL, D., P. ALAUPOVIC und R. H. FURMAN, *J. clin. Invest.* 48, 124 (1969). — 22. SEIDEL, D., P. ALAUPOVIC, R. H. FURMAN und W. J. MCCONATHY, *J. clin. Invest.* 49, 2396 (1970). — 23. SEIDEL, D., H. P. GEISEN und H. ROELCKE, *FEBS-Letters* 18, 43 (1971). — 24. LOWRY, O. H., N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR und R. J. RANDALL, *J. biol. Chemistry* 193, 265 (1951). — 25. SPERRY, W. M. und M. WEBB, *J. biol. Chemistry* 187, 97 (1950). — 26. GERLACH, E. und B. DEUTICKE, *Biochem. Z.* 337, 477 (1963). — 27. VAN HANDEL, E. und D. B. ZILVERSMIT, *J. Laborat. Clin. Med., S. Louis* 50, 152 (1957). — 28. DAVIS, B. J., *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 121, 404 (1964). — 29. GRAY, W. R., *Methods Enzymol.* 11, 139 (1967). — 30. SCANU, A. L., A. LEWIS und F. M. BUMPUS, *Arch. Biochem. Biophysics* 74, 390 (1958). — 31. SCANU, A. L., *J. biol. Chemistry* 242, 711 (1967). — 32. DE LALLA, L., L. LEVINE und R. K. BROWN, *J. exper. Med.* 106, 261 (1957). — 33. LEVY, R. I. und D. S. FREDRICKSON, *J. clin. Invest.* 44, 426 (1965). — 34. SCANU, A., *J. Lipid Res.* 7, 295 (1966). — 35. SHORE, B. und V. SHORE, *Biochemistry, USA* 7, 2773 (1968). — 36. BERG, K., *Acta Path. Microbiol. Scand.* 59, 369 (1963). — 37. NICHOLS, A. V., *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* 64, 1128 (1969). — 38. GOPMAN, J. W., O. DE LALLA, F. GLAZIER, N. K. FREEMAN, F. T. LINDGREN, A. V. NICHOLS, B. STRISOWER und A. R. TAMPLIN, *Plasma* 2, 413 (1954). — 39. STRISOWER, B., P. ELMLINGER, J. W. GOPMAN, N. D. DE LALLA und O. DE LALLA, *J. clin. Endocr., Springfield* 19, 117 (1959). — 40. FURMAN, R. H., R. P. HOWARD und K. LAKSHMI, *Amer. J. Clin. Nutr.* 9, 73 (1961). — 41. SEIDEL, D., B. AGOSTINI und P. MÜLLER, *Biochim. biophysica Acta, Amsterdam* 260, 146 (1972). — 42. TATA, J. R., *Nature, London* 219, 331 (1968). — 43. TATA, J. R., *Proc. soc. int. Congr. of Endocr., London Part 1*, 46 (1964). — 44. SOKOLOFF, L., *Proc. soc. int. Congr. of Endocr., London Part 1*, 87 (1964). — 45. ADAMS, D. D., *J. clin. Endocr., Springfield* 18, 699 (1958). — 46. BRUNKE, G., *J. clin. Endocr., Springfield* 27, 1161 (1967). — 47. SCHEMMEL, K. und L. WEISBECKER, *Erg. inn. Med.* 29, 278 (1970). — 48. MCKENZIE, J. M., *J. clin. Endocr., Springfield* 25, 424 (1965). — 49. CHOPRA, I. J., G. N. BEALL und D. H. SOLOMON, *J. clin. Endocr., Springfield* 32, 772 (1971).

Priv.-Doz. Dr. Dietrich Seidel
Chemisches Laboratorium, Med. Universitätsklinik
69 Heidelberg
Bergheimerstr. 58
Germany